



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.009

www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/201802157.pdf

## 臭氧外用对特应性皮炎患者金黄色葡萄球菌定植的干预作用

鲁建云, 李苗苗, 黄健, 高丽华, 潘伊枝, 付志兵, 窦建华, 黄进华, 向亚平

(中南大学湘雅三医院皮肤科, 长沙 410013)

**[摘要]** 目的: 研究臭氧外用对特应性皮炎患者皮损处金黄色葡萄球菌定植的作用及其与病情的相关性。方法: 招募6~65岁中重度特应性皮炎患者, 选取两侧对称皮损作为靶部位, 对照侧靶部位皮损采用温水洗浴联合基础油外涂, 治疗侧靶部位皮损及全身余处用臭氧水洗浴并联合外用臭氧油, 每天治疗2次, 连续治疗7 d。定量检测靶部位皮损处金黄色葡萄球菌的变化, 评估患者治疗前后靶部位皮损及全身病情变化, 分析患者病情变化与皮损处金黄色葡萄球菌载量变化的相关性。结果: 与治疗前及对照侧皮损比较, 治疗第7天治疗侧靶部位皮损红斑和丘疹明显减少, 瘙痒减轻; 治疗侧靶部位皮损金黄色葡萄球菌载量在治疗第3, 7天分别下降(75.55±21.81)%, (97.24±2.64)%; 治疗第7天, 治疗侧和对照侧金黄色葡萄球菌载量下降差异有统计学意义( $P<0.01$ ); 治疗第7天, 患者的特应性皮炎评分(scoring of atopic dermatitis, SCORAD)、睡眠及瘙痒评分较治疗前均显著降低( $P<0.01$ ); 臭氧治疗皮损处金黄色葡萄球菌载量下降率与SCORAD评分的下降率呈正相关( $r=0.916$ ,  $P=0.001$ )。结论: 臭氧外用能有效减少特应性皮炎患者皮损处金黄色葡萄球菌的载量并缓解中重度特应性皮炎患者病情。

**[关键词]** 特应性皮炎; 臭氧; 金黄色葡萄球菌定植; 反射式共聚焦显微镜

## Effect of ozone on *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic dermatitis

LU Jianyun, LI Miaomiao, HUANG Jian, GAO Lihua, PAN Yizhi, FU Zhibing, DOU Jianhua, HUANG Jinhua, XIANG Yaping

(Department of Dermatology, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

### ABSTRACT

**Objective:** To verify the effect of ozone on *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) colonization in patients with atopic dermatitis (AD) and its correlation with the patient's status.

**Methods:** A total of 12 patients with moderate or severe AD, aged from 6 to 65 years, were recruited from outpatient of the Third Xiangya Hospital. The treatment sides were showered with ozonated water and smeared with ozonated oil for 7 days (twice a day), while the control sides

收稿日期(Date of reception): 2017-02-25

第一作者(First author): 鲁建云, Email: xiaoyun3@csu.edu.cn

通信作者(Corresponding author): 向亚平, Email: 1203194523@qq.com

基金项目(Foundation item): 中南大学中央高校基本科研业务费专项资金(2016zzts574); 湖南省自然科学基金(2015JJ6120); 湖南省卫生计生委科研项目(B2015-032, B2015-034); 湖南省发展和改革委员会科研基金(湘发改[2014]658号)。This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities of Central South University (2016zzts574), the Natural Science Foundation of Hunan Province (2015JJ6120), the Research Project of the Health and Family Planning Commission of Hunan Province (B2015-032, B2015-034), and the fund from the Hunan Provincial Development and Reform Commission ([2014]658), China.

were washed with warm running water and smeared with base oil. At different time points, the severity scoring of atopic dermatitis (SCORAD) scores, sleep and pruritus scores were assessed and compared between the two sides. Meanwhile, plate cultivation was used to quantitatively detect the changes of *S. aureus* colonization in skin lesions.

**Results:** After 7 days treatment, erythema and pimples were decreased in the treatment sides. The clear skin texture, smooth skin, improved skin lesions were also observed by dermoscopic examination. The results of reflectance confocal microscopy (RCM) demonstrated that the parakeratosis was improved, the structures were clearer, and the inflammatory cells infiltration was reduced after ozone treatment for 7 days. After ozone treatment for 3 and 7 days, the *S. aureus* colonization in the treatment sides decreased by  $(75.55 \pm 21.81)\%$  and  $(97.24 \pm 2.64)\%$  respectively. Compared to that of control sides, the percentage of *S. aureus* colony after ozone treatment for 7 days decreased significantly ( $P < 0.01$ ). After ozone treatment for 7 days, the SCORAD scores, sleep and pruritus scores were significantly decreased (all  $P < 0.01$ ). There was a linear correlation between the decreasing percentage of *S. aureus* colony and the declining percentage of SCORAD scores in AD patients.

**Conclusion:** Topical ozone therapy can effectively reduce *S. aureus* colony in skin lesions and alleviate the severity of AD patients with moderate to severe degree.

## KEY WORDS

atopic dermatitis; ozone; *Staphylococcus aureus*; reflectance confocal microscopy

特应性皮炎是一种与遗传过敏体质相关的慢性皮肤炎症性疾病, 由于瘙痒剧烈, 严重影响患者的生活质量<sup>[1]</sup>。特应性皮炎患者的金黄色葡萄球菌定植显著高于正常人群<sup>[2]</sup>。目前临床上治疗主要包括外用糖皮质激素、钙调神经磷酸酶抑制药和抗生素等, 以上治疗由于其疗效的局限性以及不良反应的存在尚不能满足特应性皮炎患者长期治疗的需求<sup>[3]</sup>。臭氧对细菌、真菌、病毒等多种微生物均具有杀灭作用<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究<sup>[5]</sup>发现臭氧可有效缓解中重度特应性皮炎患者病情, 其机制是否与臭氧外用对皮损处金黄色葡萄球菌定植的清除作用有关尚不清楚。本研究拟用臭氧水疗和臭氧油外用治疗中重度特应性皮炎患者, 进一步明确臭氧外用对中重度特应性皮炎的治疗效果, 及其对特应性皮炎皮损处金黄色葡萄球菌定植的干预作用。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

2016年5至9月招募中南大学湘雅三医院皮肤科门诊中重度特应性皮炎患者作为研究对象。入选标准: 符合特应性皮炎诊断标准<sup>[6]</sup>, 男女不限, 年龄6~65岁, 且病情达到中重度评分、血清总IgE水平升高、金黄色葡萄球菌定植阳性。排除标准: 1) 已知对臭氧外用制剂过敏者; 2) 患有可能干扰治疗和判断病情的其他皮肤病者; 3) 伴严重系统性疾病者, 孕妇和哺乳期妇女; 4) 就诊前2周系统或局部使用糖皮质

激素、免疫抑制药、抗生素类药物者。入组患者共12例, 男女各6例, 年龄6.0~46.0( $16.5 \pm 10.2$ )岁, 病程3.0~164.0( $91.8 \pm 52.9$ )个月, 特应性皮炎评分(scoring of atopic dermatitis, SCORAD)为 $58.3 \pm 12.00$ , 血清总IgE水平( $1\ 368.6 \pm 710.10$ ) U/mL, 外周血嗜酸性粒细胞计数( $8.7 \pm 3.26$ ) $\times 10^9$ /mL, 11例有过敏史, 3例有过敏类疾病家族史。本研究经中南大学湘雅三医院医学伦理委员会批准, 所有患者签署知情同意书(未成年人由其监护人签署)。

### 1.2 臭氧水疗仪及臭氧油

臭氧水疗仪为中南大学湘雅三医院皮肤科专利技术转化产品, 湖南海贻医疗科技有限公司生产(型号: HZ2600A, 湘食药监械(准)字2013第2260074号, 注册产品标准: YZB/0015-2013)。臭氧水浓度( $3.0 \pm 1.5$ ) mg/L。臭氧油(批号: 20160601)及基础油(山茶油)均由湖南海贻医疗科技有限公司生产并提供。

### 1.3 治疗方法

选取患者两侧对称典型皮损作为靶部位, 设立对照侧和治疗侧。对照侧用自来水清洗、吸干水分后外涂基础油。用保鲜膜覆盖对照侧后, 治疗侧及全身余处用臭氧水清洗, 吸干水分后外涂臭氧油。每日两次, 连续治疗1周。

### 1.4 检测方法

治疗前、治疗第3和7天分别对患者瘙痒、睡眠

质量、全身以及靶部位的皮损严重程度进行评分, 检测金黄色葡萄球菌的载量, 且用皮肤镜、反射式共聚焦显微镜(reflectance confocal microscope, RCM)检测靶部位皮损厚度及炎症情况的变化。

靶部位细菌培养方法如下: 取消毒后边长为4 cm镂空方形标准规格不干胶(面积16 cm<sup>2</sup>)黏贴特异性皮炎靶皮损处, 避开腋窝、腹股沟、外阴和肛周等特殊部位, 在镂空处用无菌生理盐水浸湿的无菌棉签反复擦拭, 横向、纵向和斜向各10次, 擦拭时避免擦到镂空范围以外。然后将棉签投入2.5 mL稀释液中, 反复振荡80次后取10 μL接种于羊血平皿培养基中, 在35 ℃有氧环境下培养24 h, 记录培养后细菌菌落数。根据下列公式计算每平方厘米皮损面积的菌落数。皮损表面细菌密度=每平皿菌落数×250/16。

临床评分参考文献[7]进行。SCORAD评分=A/5+7B/2+C。A代表皮损面积。B代表皮损严重程度, 包括红斑、丘疹或水肿、渗出或结痂、表皮剥脱、苔藓化、皮肤干燥6项指标。C代表瘙痒和影响睡眠程度两项评分的和, 采用10 cm视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)进行评价, 用最近3昼夜平均分计算; 无瘙痒计0分, 极度瘙痒计10分; 对睡眠无影响计0分, 极度瘙痒难以入睡计10分。SCORAD评分总分范围0~103分, 轻度0~24分, 中度25~50分, 重度51~103分。此外, 我们对靶部位皮损的严重程度评分采用局部EASI评分法<sup>[8]</sup>, 包括4项指标: 红斑、丘疹/水肿/浸润、鳞屑、苔藓化。皮损严重程度分级: 0分为无皮损; 1分为轻度, 需仔细观察; 2

分为中度, 立即看到; 3分为重度, 非常明显; 总分0~12分。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件包进行统计学分析, 计量资料用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 组间比较用独立样本 $t$ 检验, 自身对照比较采用配对样本 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 臭氧外用对特异性皮炎患者皮损的影响

治疗前, 患者两侧手肘均有明显红斑、丘疹, 糜烂; 治疗第3天, 治疗侧红斑和丘疹减少, 治疗7 d后, 皮损得到显著改善。对照侧治疗第3, 7天症状也都有一定程度的缓解(图1A)。

治疗前对照侧和治疗侧皮肤镜下可见皮肤干燥脱屑、表皮剥脱, 纹理不清晰。治疗第7天, 治疗侧皮肤纹理清晰、光滑; 对照侧皮肤也有一定改善, 但是效果不如治疗侧(图1B)。

RCM下可见治疗前双侧均表现为角化过度, 局灶角化不全, 棘层多个水疱形成区域海绵性水疱, 表皮增生; 治疗7 d后, 对照侧较治疗前稍好转, 治疗侧较对照侧皮损明显好转, 治疗侧表现为表皮轻度增生, 棘层厚度接近正常皮肤, 真皮乳头及基底环明显, 隐约见炎细胞浸润(图1C)。

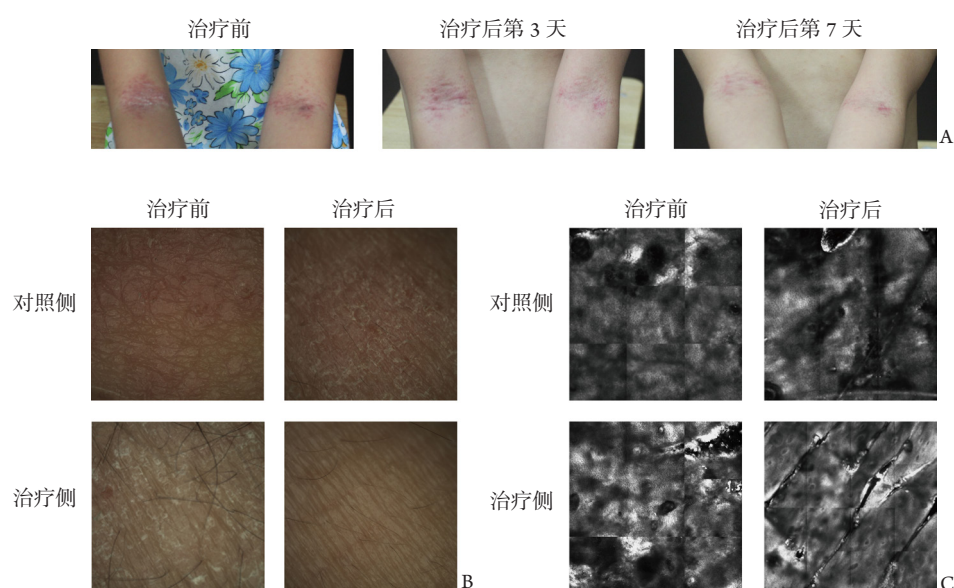


图1 臭氧外用对特异性皮炎患者皮损的影响

Figure 1 Effects of ozone on skin lesions in patients with atopic dermatitis

A: Skin lesions before and after therapy. The right elbow is the control side, and the left elbow is the ozone treatment side. B: Skin lesions before and after therapy under dermoscope. C: Skin lesions before and after therapy under reflectance confocal microscope

### 2.2 臭氧外用对特应性皮炎患者金黄色葡萄球菌定植的清除作用

与治疗前相比, 治疗第3, 7天治疗侧皮损金黄色葡萄球菌载量分别减少(76.55±21.81)%, (97.24±2.44)%( $t=9.927, 112.7, P<0.01$ ; 图2A)。治疗第7天, 治疗侧和对照侧金黄色葡萄球菌载量下降差异有统计学意义( $t=45.52, P<0.01$ ; 图2B)。

### 2.3 臭氧外用对特应性皮炎患者各项临床评分的影响

与治疗前SCORAD评分(58.30±12.0)相比, 治疗第3天SCORAD评分下降至41.20±9.46( $t=3.157, P<0.01$ ), 治疗第7天则降至28.60±6.00( $t=6.242,$

$P<0.01$ ; 图3A)。

治疗前患者睡眠评分和瘙痒评分分别为2.70±0.39和3.50±0.53; 治疗第3天, 评分分别下降至2.10±0.38( $t=8.0, P<0.01$ )和2.50±0.53( $t=3.742, P=0.002$ ); 治疗第7天, 则分别降至1.40±0.35( $t=8.64, P<0.01$ )和1.80±0.60( $t=6.173, P<0.01$ ; 图3B)。

治疗前, 治疗侧和对照侧靶部位的皮损严重程度评分分别为8.75±1.68和8.67±1.72, 两者之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与治疗前相比, 治疗第7天, 治疗侧和对照侧的局部评分分别降至4.08±0.51和6.58±1.31, 差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。治疗第7天, 治疗侧的评分显著低于对照侧评分( $P<0.01$ )。

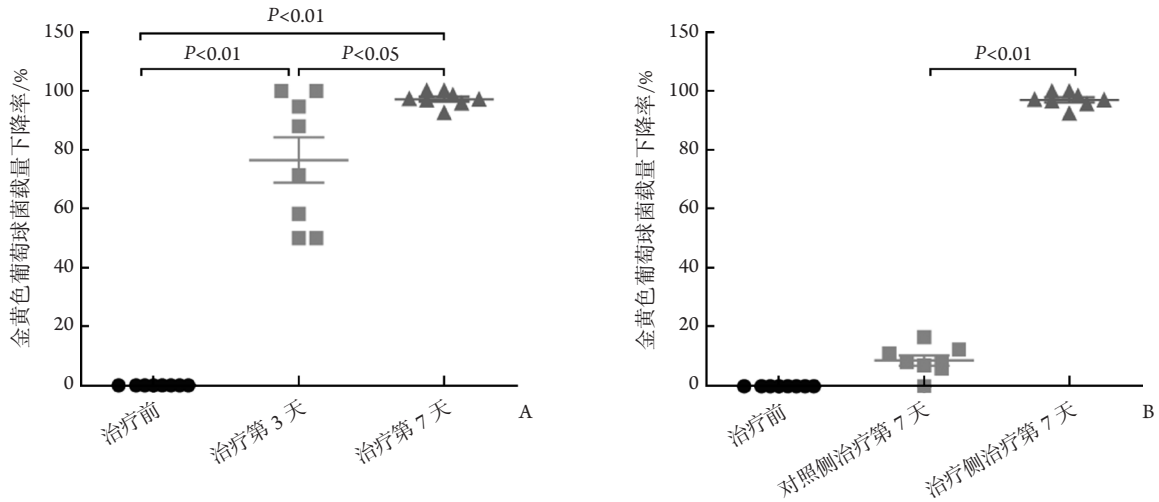


图 2 臭氧外用对特应性皮炎患者金黄色葡萄球菌定植的改善作用

Figure 2 Effects of ozone on the *Staphylococcus aureus* loads in skin lesions

A: Comparison among ozone treatment for 0, 3, 7 d; B: Comparison between the control side and the ozone treatment for 7 d

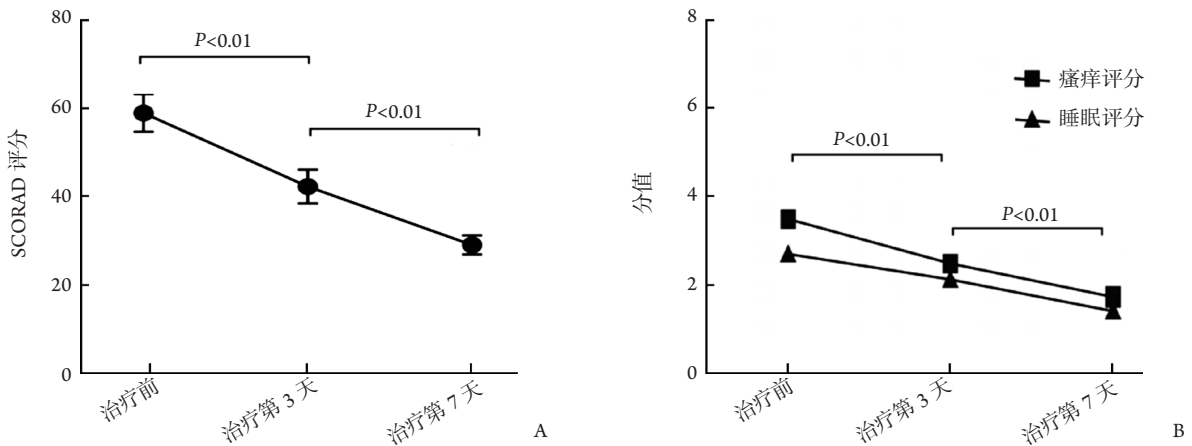


图 3 臭氧外用对特应性皮炎患者临床评分的改善作用

Figure 3 Effects of ozone on the clinical indexes

A: Comparison among ozone treatment for 0, 3, 7 d; B: Comparison between the control side and the ozone treatment for 7 d



## 2.4 SCORAD 评分和金黄色葡萄球菌载量相关性分析

特应性皮炎患者治疗7 d后, 金黄色葡萄球菌载量下降率与SCORAD评分的下降率呈正相关( $r=0.916$ ,  $P=0.001$ ; 图4)

## 2.5 不良反应

1例患者使用臭氧油后皮损加重, 降低浓度后不良反应消失, 该患者使用臭氧水无不良反应。其他患者无不良反应。

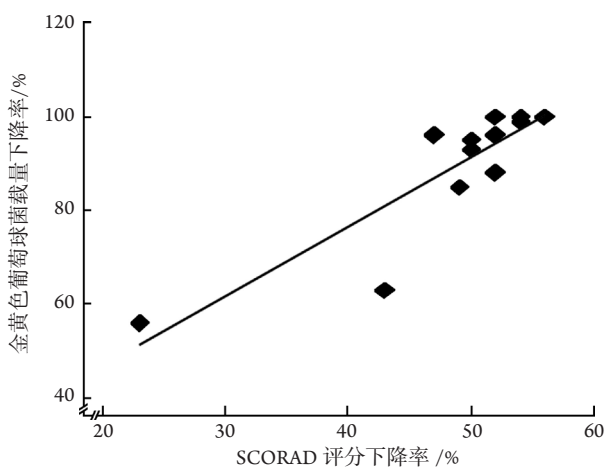


图4 金黄色葡萄球菌载量减少百分比与 SCORAD 评分下降率的直线相关性分析

Figure 4 Linear correlation relationship between decreasing percentage in *Staphylococcus aureus* loads and SCORAD scores

## 3 讨论

正常情况下, 皮肤上生存着细菌、真菌、螨虫和病毒等皮肤微生物群, 具有多样性和特异性。皮肤微生物群可分为暂驻菌和常驻菌, 暂驻菌从环境中获得并暂时停留在皮肤上, 常驻菌则与宿主保持着动态平衡关系。一旦这种稳态被破坏, 皮肤的屏障和免疫反应异常, 引发各种皮肤疾患<sup>[9-10]</sup>。金黄色葡萄球菌是人体皮肤表面的正常菌群之一, 正常情况下其检出的阳性率和密度甚低, 但是研究<sup>[11]</sup>发现特应性皮炎患者皮肤表面的金黄色葡萄球菌定植明显高于正常人群, 激发皮肤炎症反应, 产生瘙痒感, 引起抓挠, 破坏皮肤屏障, 与特应性皮炎的发病密切相关。此外, 特应性皮炎患者皮损又容易继发金黄色葡萄球菌感染, 出现“瘙痒-搔抓-瘙痒”的恶性循环。由此可见, 减少特应性皮炎患者皮肤表面金黄色葡萄球菌载量是治疗特应性皮炎的重要环

节<sup>[12]</sup>。臭氧, 一种可溶于水的强氧化性的气体, 对各种细菌、病毒、真菌、衣原体、滴虫等致病微生物都具有杀灭作用, 本课题组在前期的研究<sup>[13]</sup>中发现1 mg/L的臭氧水作用1 min对金黄色葡萄球菌和耐药金黄色葡萄球菌的杀灭率可达100%, 且不产生耐药性, 可部分替代外用抗生素。因此, 本研究探讨臭氧水疗联合外用臭氧油对中重度特应性皮炎患者金黄色葡萄球菌定植的清除作用, 结果表明臭氧疗法可有效降低特应性皮炎患者皮肤表面的金黄色葡萄球菌的载量。

本研究结果表明: 臭氧疗法可以明显缩小患者皮损面积, 减轻炎症, 缓解瘙痒, 改善患者的生活质量, 对不同年龄、中重度特应性皮炎患者效果都十分显著, 且其临床疗效与皮损处金黄色葡萄球菌载量下降呈直线相关, 这提示臭氧外用可通过减少皮损处金黄色葡萄球菌载量缓解病情。在治疗的过程中不良反应发生率低, 提示其具有良好的安全性。

本研究同时观察到对照侧经治疗后皮损较治疗前也得到了不同程度的改善, 可能与洗浴和基础油的作用以及臭氧治疗后患者全身金黄色葡萄球菌定植较少有关。

本研究首次报道臭氧外用疗法能显著减少特应性皮炎患者皮损区域金黄色葡萄球菌定植并缓解患者病情, 简单方便, 费用低廉, 安全性高, 为特应性皮炎治疗提供了新的选择。由于该研究样本量少, 且特应性皮炎患者除了皮肤菌群失调外, 还存在固有免疫和后天免疫功能异常以及皮肤屏障功能受损<sup>[14-15]</sup>, 仅单独使用抗生素以及抗生素替代品不足以缓解该类患者的病情。因此, 臭氧外用治疗特应性皮炎还需要更大样本的临床研究, 其治疗机制值得更深层次的探讨。

**利益冲突声明:** 作者声称无任何利益冲突。

## 参考文献

- [1] Akdis CA, Akdis M, Bieber T, et al. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergy and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/PRACTALL Consensus Report[J]. *Allergy*, 2006, 61(8): 969-987.
- [2] 毕志刚, 田美华, 林麟, 等. 湿疹与特应性皮炎皮损处细菌学研究[J]. *中华皮肤科杂志*, 2004, 37(10): 595-597.  
BI Zhigang, TIAN Meihua, LIN Lin, et al. Bacteriological study on the skin lesions of patients with eczema and atopic dermatitis[J].

- Chinese Journal of Dermatology, 2004, 37(10): 595-597.
- [3] Rebecca B, Arshdeep S, Mark GN. Atopic dermatitis: An overview[J]. American Family Physician, 2012, 86(1): 35-42.
- [4] Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine?[J]. Br J Biomed Sci, 1999, 56(4): 270-279.
- [5] 张英博, 向亚平, 黄进华, 等. 联合臭氧水治疗特应性皮炎患者的疗效及白细胞介素4、神经生长因子检测[J]. 中华皮肤科杂志, 2016, 49(10): 736-738.
- ZHANG Yinbo, XIANG Yaping, HUANG Jinhua, et al. Combined ozone hydrotherapy for atopic dermatitis: evaluation of efficacy and detection of interleukin-4 and nerve growth factor levels in peripheral blood from patients before and after treatment[J]. Chinese Journal of Dermatology, 2016, 49(10): 736-738.
- [6] 顾恒, 陈祥生, 陈崑, 等. 特应性皮炎诊断标准的评价[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(4): 222-225.
- GU Heng, CHEN Xiangsheng, CHEN Kun, et al. Evaluation of diagnostic criteria for atopic dermatitis[J]. Chinese Journal of Dermatology, 2000, 33(4): 222-225.
- [7] Oranje AP, Glazenburg EJ, Wolkerstorfer A, et al. Practical issues on interpretation of scoring atopic dermatitis: the SCRAD index, objective SCORAD and the three-item severity score[J]. Br J Dermatol, 2007, 157(4): 645-648.
- [8] 赵辨. 湿疹面积及严重程度指数评分法[J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(1): 3-4.
- ZHAO Bian. The index evaluation method of Eczema area and severity[J]. Chinese Journal of Dermatology, 2004, 37(1): 3-4.
- [9] Breuer K, Haussler S, Kapp A. *Staphylococcus aureus*: colonizing features and influence of an antibacterial treatment in adults with atopic dermatitis[J]. Br J Dermatol, 2002, 147(1): 55-61.
- [10] Sanford JA, Gallo RL. Functions of the skin microbiota in health and disease[J]. Semin Immunol, 2013, 25(5): 370-377.
- [11] Williams MR, Gallo RL. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2015, 15(11): 65.
- [12] Salava A, Lauerma A. Role of the skin microbiome in atopic dermatitis[J]. Clin Transl Allergy, 2014, 4: 33.
- [13] Song M, Zeng Q, Xiang Y, et al. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 2449-2455.
- [14] Bourrain M, Ribet V, Calvez A, et al. Balance between beneficial microflora and *Staphylococcus aureus* colonisation: in vivo evaluation in patients with atopic dermatitis during hydrotherapy[J]. Eur J Dermatol, 2013, 23(6): 786-794.
- [15] Baviera G, Leoni MC, Capra L, et al. Microbiota in healthy skin and in atopic eczema[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 436921.

( 本文编辑 郭征 )

**本文引用:** 鲁建云, 李苗苗, 黄健, 高丽华, 潘伊枝, 付志兵, 窦建华, 黄进华, 向亚平. 臭氧外用对特应性皮炎患者金黄色葡萄球菌定植的干预作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(2): 157-162. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.009

**Cite this article as:** LU Jianyun, LI Miaomiao, HUANG Jian, GAO Lihua, PAN Yizhi, FU Zhibing, DOU Jianhua, HUANG Jinhua, XIANG Yaping. Effect of ozone on *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic dermatitis[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2018, 43(2): 157-162. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.009